

ヒト皮膚由来ナース細胞様クローンの樹立と性格

著者	山根 昌治
号	2603
発行年	1994
URL	http://hdl.handle.net/10097/20994

氏 名（本籍）	やまねしょうじ 山 根 昌 治
学 位 の 種 類	博 士 （ 医 学 ）
学 位 記 番 号	医 第 2 6 0 3 号
学位授与年月日	平 成 6 年 2 月 23 日
学位授与の条件	学位規則第4条第2項該当
最 終 学 歴	昭 和 62 年 3 月 25 日 名古屋大学大学院理学研究科博士課程 前期（生物学専攻）修了
学 位 論 文 題 目	Establishment and Characterization of Nurse Cell-like Clones from Human Skin. （ヒト皮膚由来ナース細胞様クローンの樹立と性 格）
論文審査委員	（主 査） 教授 伊 藤 恒 敏 教授 田 上 八 朗 教授 菅 村 和 夫

論 文 内 容 要 旨

マウス皮膚には Thy 1 + dendritic Epidermal Cell (T-dEC) と呼ばれる $\gamma \delta$ 型 T 細胞が常在している。この T 細胞の抗原受容体には構造的に多様性がなく、また多種の腫瘍細胞株に対して幅広い細胞障害活性を有することから、一般的な抗原特異的な免疫応答とは異なった機序によって皮膚における生体防御に関わっていると考えられている。

我々はこれまでヒトの皮膚における T-dEC の存在を調べてきたが、その過程でヒト表皮由来長期培養中に、我々が既に樹立しているマウス胸腺ナース細胞 (TNC) クローンと非常に類似した性状を示す細胞を見だし、今回これをクローン化することに成功した。

胸腺ナース細胞 (TNC) は、特徴的なリンパ球との複合体を形成 (Emperipolesis) し、胸腺内での T 細胞の分化、成熟に関与する細胞の候補の一つとされている。

クローン化されたヒト皮膚由来ナース様細胞 (HSNC) はビメンチン陽性、サイトケラチン陰性の間葉系細胞で、CD44, ICAM-1 陽性、VCAM-1 弱陽性であった。また、IFN- γ で刺激することにより HLA-DR の発現が誘導され、抗原提示能を有する可能性が示唆された。

ナース細胞の特徴である Emperipolesis 形成能は、ヒト末梢血リンパ球あるいはマウス胸腺リンパ球を用いた HSNC との共培養系において、リンパ球を HSNC の下に抱き込む像 (Pseudo-emperipolesis) により確認し、さらに、マウス T リンホーマ L1 を用いたハンギングドロップ培養系により、典型的なリンパ球-HSNC 複合体の形成確認した。

また、T 細胞系 (16 株)、B 細胞系 (3 株)、非リンパ球系 (4 株) 細胞株を用いて Pseudoemperipolesis を調べた結果、HSNC に抱き込まれた細胞は T 細胞だけに限定されず、このなかにはマウスの細胞も含まれていた。HSNC と Pseudo-emperipolesis を示す細胞の特異性は、既に我々が樹立しているマウス TNC の場合と全く同様であった。この結果は、HSNC と TNC とが同一の機構によってリンパ球との複合体形成をおこなっており、ヒト-マウス間で交差可能であることを示している。

HSNC のサイトカイン産生能を調べた結果、HSNC は、IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, G-CSF, GM-CSF, CSF-1, TGF- β , SCF を産生するが、IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, TNF- α , β の産生は検出されなかった。

以上の結果は、マウス TNC とよく一致しており、TNC と HSNC との高い類似性を示している。すなわち、これはリンパ球の増殖、あるいは分化を支持する可能性のある細胞が皮膚にも存在していることを示唆している。

実際、マウス上皮由来長期培養においては T-dEC と Pseudo-emperipolesis をしているナース

様細胞の存在が観察され、T-dEC の増殖にこの細胞が重要な役割を果たしている可能性が示唆されている。一方ヒトの場合、IL-2 存在下においても上皮長期培養からは T-dEC のようなリンパ球の増殖は見られなかったが、マウスと同様なナース様細胞の存在は今回 HSNC により確かめられた。

そこで、この HSNC が T 細胞の活性化や増殖に何らかの役割を持っているのか調べる目的で自己混合リンパ球反応を行った。

抗原提示細胞として IFN- γ 処理/未処理の HSNC を用意し、自己の末梢血精製 T 細胞画分を 20% 自己血清を含む培地中で培養した。その結果 IFN- γ 処理によって HLA-DR を誘導された HSNC が自己 T 細胞に対して増殖を起こさせる能力を持つことが確かめられた。

次に、誘導されてきた自己応答性 T 細胞集団の細胞障害活性を調べた。無処理の HSNC に対しては全く反応しないが、TNP-修飾、または Virus-感染により変性された HSNC に対しては、他のアロ抗原性をもつ腫瘍細胞株に対してと同様、細胞障害活性を示した。

以上の結果は、HSNC が IFN- γ などの刺激により HLA-DR が誘導された場合、T-dEC と同じ様な Non-Specific Killer Cell を皮膚常在性のものでなく、末梢血 T 細胞からでも誘導することができることを示している。

一般的に炎症局所の皮膚において HLA-DR が誘導されていることを考えると、炎症時、IFN- γ などの液性因子により HLA-DR を誘導された HSNC が変性した自己細胞に対する免疫反応を惹起しているのかもしれない。

このような皮膚の細胞が胸腺ナース細胞と類似していることは非常に興味深く、今回の HSNC は既にクローン化されているマウス TNC とともに、皮膚および胸腺でのリンパ球とある種のストローマ細胞との相互関係を明らかにするために大変有用であると思われる。

審 査 結 果 の 要 旨

本論文は、要約すると以下の3点にまとめることができる。

1. epidermal sheet 由来長期培養より胸腺ナース細胞と非常に類似したリンパ球との複合体を形成する間葉系細胞をクローニングした。特異的な細胞間相互作用を示す細胞はT細胞だけに限定されず、B細胞系、非リンパ球系も含まれ、マウス細胞の一部も相互作用を示した。
2. この細胞が発現する種々の表面抗原及びサイトカイン等が検索された。
3. この細胞はインターフェロン γ 刺激によりMHC class-IIを発現させると自己末梢血T細胞に対して何らかの自己抗原を提示し、非特異的な細胞障害性T細胞を誘導することができた。

胸腺ナース細胞はそのユニークなリンパ球との複合体形成能のため、発見当初から胸腺内T細胞分化における重要性が示唆されてきた。しかし、実際の役割については現在にいたってもなお不明のままであり、ナース細胞を定義づける特徴としてはMHC class-IIの発現とEmperipolesis以外にはない。今回これらの特徴を持った細胞が胸腺以外にも存在することが初めて示され、胸腺内T細胞分化におけるナース細胞の関与を考え直す必要性が示唆された。

皮膚が生体防御の最前線であることは言うまでもないが、皮膚における免疫反応のメカニズムは依然明らかでない。マウス皮膚においては、T-dECが皮膚における免疫反応に深く関わっていることが示唆されているが、ヒト皮膚においてはこれに対応する細胞は発見されていない。本論文では自己混合リンパ球反応系を用いて、皮膚ナース様細胞が自己末梢血リンパ球からT-dECと同様のエフェクター機能を持った細胞を誘導できることを示し、in vitroの実験結果からヒト皮膚の免疫メカニズムに関する一つの解釈を与えている。

以上のことにより、本論文は独創性、および新規性においても本学医学部の学位論文として相応しいものと判断した。